

?

T S1/5

1/5/1

DIALOG(R)File 352:Derwent WPI

(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

002240465

WPI Acc No: 1979-39660B/197921

Acetic acid prepn. by fermentation - of Acetobacter bacteria in culture
medium contg. ethanol

Patent Assignee: NAKANO SU-MISE KK (NAKA-N)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 54046899	A	19790413				197921 B

Priority Applications (No Type Date): JP 77111242 A 19770917

Abstract (Basic): JP 54046899 A

Processs comprises inoculating acetic acid bacteria of Acetobacter which can multiply vigorously and shows strong productivity for acetic acid on submerged culture at 35-40 degrees C in the liquid culture medium contg. >4% of acetic acid and ethanol in such a culture medium.

Acetic acid fermentation can be practiced at 35-40 degrees C which is higher than conventional acetic acdi-fermenting temp. of 30 degrees C and the cooling water can reduced. The novel bacterial strain used is Acetobacter acetii 2-550 (FERM P4195).

Title Terms: ACETIC; ACID; PREPARATION; FERMENTATION; ACETOBACTER; BACTERIA

; CULTURE; MEDIUM; CONTAIN; ETHANOL

Derwent Class: D13; D16; E17

International Patent Class (Additional): C12D-001/02; C12J-001/04

File Segment: CPI

?

⑬日本国特許庁(JP)
⑫公開特許公報(A)

⑪特許出願公開
昭54—46899

⑤Int. Cl.² 識別記号 ⑥日本分類 庁内整理番号 ③公開 昭和54年(1979)4月13日
C 12 J 1/04 // 1 0 3 36(5) E 3 7258—4 B
C 12 D 1/02 36(2) D 24 7822—4 B 発明の数 1
審査請求 未請求

(全 6 頁)

⑭食酢の製造方法

②特 願 昭52—111242
②出 願 昭52(1977)9月17日
⑦発 明 者 正井博司
半田市雁宿町2—110—4
同 大森昭治
東京都文京区千石4—38—12

②発 明 者 有馬啓
東京都文京区西片2—7—15
同 別府輝彦
東京都杉並区堀の内1—5—21
①出 願 人 株式会社中塾酢店
半田市中村町2丁目6番地
④代 理 人 弁理士 坂田順一

明 証 書

1. 発明の名称

食酢の製造方法

2. 特許請求の範囲

アセトバクター属に属し、4%以上の酢酸、および酒精を含有する液体培地で35～40℃の温度での深部培養において生育旺盛でかつ酢酸生成力の強い酢酸菌を、酢酸および酒精を含有する液体培地に接種し、35～40℃の温度で深部発酵を行なうことを特徴とする食酢の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は35～40℃という高温で深部発酵を行なつて食酢を製造する方法に関する。

従来、醸造酢の製造方法としては、発酵法の間からは静置発酵法と深部発酵法の2つの方法が行なわれている。

この両発酵法における発酵温度としては、酢酸菌の増殖および酢酸生成の最適温度である30℃近辺が最適であるとされている。そして特に深部

発酵法においては、安定した酢酸発酵を行なわせるために、培養温度の管理を厳格に行なう必要がある。通常酢酸菌の増殖に伴い生ずる発酵熱を冷却水を通じることにより吸収して培養温度を一定に保つように管理している。すなわち深部発酵法での酢酸発酵の場合、30℃の培養温度に対し2～3℃の変動があつても、酢酸菌の生育および酢酸生成速度の著しい低下をきたすことが知られているからである。

しかし、発酵装置の設置面積、労力の点で静置発酵に比べて有利な深部発酵を35～40℃の高温で行なうことができれば、30℃の発酵温度の場合に比べ冷却水を著しく節減することが可能で経済的に有利になる。

しかしながら、従来知られている酢酸菌を用い35℃以上の培養温度で深部発酵法により酢酸発酵を実施した場合には、酢酸菌の生育および酢酸生成力が著しく低下するかあるいは皆無となるため、従来35℃以上という高い発酵温度で深部発酵により食酢を工業的に生産することは、非常に困

離とされていたのである。

そこで本発明者等は、醸造酢の工業的生産の見地から4%以上の酢酸、および酒精を含有する液体培地で35~40℃の高温で深部培養した場合に旺盛に増殖し、かつ酢酸生成力の強い酢酸菌を求めて種々研究した結果、ついにこの目的に適うアセトバクター属に属する酢酸菌を見出した。

この酢酸菌は食酢発酵菌より分離されたもので、その菌学的性質は下記の如くである。

なお菌学的性質に関する実験方法は、医科学研究所学友会編「細菌学実習提要」(1968年)および「ザ・ジャーナル・オブ・ジエネラル・アンド・アプライド・マイクロバイオロジー(The Journal of General and Applied Microbiology)第10巻、第2号第95~126頁(1964年)」のザ・フラグレーション・アンド・タクソノミー・オブ・ジエネラ・グルコノバクター・アンド・アセトバクター・ウィズ・リファレンス・ツウ・ザ・エグジスタンス・オブ・インターメディアート・ストレインズ(The Flagellation and Taxonomy of Genera Gluconobacter and Acetobacter with Reference

特開昭54-46899(2)
to the Existence of Intermediate Strains)に従った。

なおまた、モルトエキス-ブドウ糖寒天培地はモルトエキス20g、ブドウ糖10gを蒸留水1ℓに溶解し、pHを6.5に調節したものであり、炭酸カルシウム含有酵母エキス-ブドウ糖斜面培地は酵母エキス5g、ブドウ糖30g、寒天20gを蒸留水1ℓに溶解し、炭酸カルシウム2% (w/v)を添加したものであり、エタノール含有酵母エキス-ブドウ糖液体培地は酵母エキス5g、ブドウ糖30gを蒸留水1ℓに溶解後、pHを6.5に調節し、滅菌したのち、エタノールを4% (v/v)無菌的に添加したものであり、ペプトン水液体培地はペプトン10gを1ℓの蒸留水に溶解後、pHを6.5に調節したものである。

さらに耐酢酸濃度の決定は、水道水1ℓにつき酵母エキス5g、ポリペプトン2g、ブドウ糖30g、酢酸30~50g、エタノール40~60gを含有する培地を用い、深部発酵法による半連続発酵法によりおこなった。

I. 形態的所見

形 状	短桿状
大 き さ	0.5~0.7×1.0~1.2μ
集 団	単細胞もしくは双細胞
運 動 性	無 し
胞子形成	形成せず
グラム染色	陰 性
抗 酸 性	無 し

II. 培養的所見

① モルトエキス-ブドウ糖寒天平板培養 (30℃で5日間培養)

形 状	円 形
辺 縁	平滑で全縁
隆 起	半球形
光 沢	無 し
表 面	平 滑
色 調	灰白色で光沢なし

② 炭酸カルシウム含有酵母エキス-ブドウ糖斜面培養 (30℃で2日間培養)

生育の良否 良 好

隆 起	中程度
表 面	平 滑
辺 縁	平滑で全縁
色 調	灰白色で光沢なし
透 明 度	不透明

③ エタノール含有酵母エキス-ブドウ糖液体静置培養 (30℃で4日間培養)

生育良好。灰白色で平滑な菌膜を形成する。菌膜はもろく、こわれやすい。培養液は透明。

④ ペプトン水液体静置培養 (30℃で4日間)

生育乏しい。灰白色の極めて薄い菌膜を形成する。培養液は透明。

⑤ ブドウ糖含有肉エキス液体静置培養 (30℃で4日間培養)

生育良好。灰白色で平滑な菌膜を形成する。菌膜はもろくこわれ易い。培養液は透明。

⑥ 加糖肉汁ゼラチン高層培養(20℃で7日間培養)

液化性無し

⑦ リトマスミルク(30℃で7日間培養)

凝固性無し

III. 生理学的性質

- ① 硝酸塩の還元：無し
 ② 脱窒反応：無し
 ③ V P テスト：陰性
 ④ インドールの生成：無し
 ⑤ 硫化水素の生成：無し
 ⑥ デンプンの加水分解：無し
 ⑦ クエン酸の利用

Koser の培地：無し

Christensen の培地：無し

⑧ 無機窒素源の利用

硝 酸 塩：無し

アンモニウム塩：有り

⑨ 色素の生成：無し

⑩ ウレアーゼ活性：無し

オキシダーゼ活性：無し

⑪ カタラーゼ活性：有り

⑬ 生育 pH 範囲：3.2 ~ 7.0

最適 pH 範囲：4.2 ~ 5.6

特開昭54-46899(3)

⑭ 生育温度範囲：10 ~ 42℃

最適温度範囲：35 ~ 37℃

⑮ 酸素に対する態度：好氣的

⑯ α-ケトグルコン酸の生成：無し

⑰ ジオキシアセトンの生成：無し

⑱ エタノールの発化性：エタノールを酸化し酢酸を生成する。

⑲ 酢酸の発化性：発化性有り

⑳ ビタミン要求性：無し

㉑ 耐酢酸濃度：30℃：1/1%

37℃：9%

40℃：7%

IV. 炭素源からの酸およびガスの生成

炭 素 源	酸 の 生 成	ガスの生成
L-アラビノース	+	-
D-キシロース	+	-
D-グルコース	+	-
D-マンノース	+	-
D-フラクトース	-	-
D-ガラクトース	+	-
麦芽糖	-	-
シロ糖	-	-
乳糖	-	-

トレハロース	+	-
D-ソルビット	-	-
D-マンニット	-	-
イノシット	-	-
グリセリン	-	-
デンプン	-	-

(注) +：生成する

-：生成しない

フアメンターを用い、酢酸4%および酒精を含有する液体培地（酵母エキス0.5%、ポリペプトン0.2%、ブドウ糖3.0%、酢酸4.0%、酒精3.0%を含有）で35℃、37℃および40℃の培養温度で72時間深部培養をおこなった結果を第1表に示す。

第 1 表

菌 株	培 養 温 度		
	35℃	37℃	40℃
アセトバクター・アセチー IFO 3281	-	-	-
アセトバクター・アセチー IFO 3283	-	-	-
アセトバクター・アセチー IFO 3284	-	-	-
アセトバクター・アセチー IFO 3188	-	-	-
アセトバクター・ランセンズ IFO 3297	-	-	-
アセトバクター・ランセンズ NRR L-B65	-	-	-
アセトバクター・キシリナム IFO 3144	-	-	-
アセトバクター・キシリナム IFO 3288	-	-	-
本 酢 酸 菌	+++	+++	+

(注) -：生育及び酢酸の生成無し

+：生育及び酢酸の生成少々有り

++：生育及び酢酸の生成かなり有り

+++：生育及び酢酸の生成旺盛

バージーズ・マニュアル・オブ・デターミネイティブ・バクテリオロジー (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology) 第5版によれば、上記した菌学的性質を有する本酢酸菌はアセトバクター・アセチーに属するものと判定されるが、アセトバクター・アセチーに属する菌株で35~40℃の培養温度で酢酸を4%以上、^{6字加ノ字附}および酒精を含有する培地で深部培養する場合に増殖する菌株はいまだ知られていない。よつて本酢酸菌はアセトバクター・アセチーに属する新菌と見なし、アセトバクター・アセチー 2-550と命名した。

本酢酸菌と既知酢酸菌のうちアセトバクター属に属する代表的な菌株について、1/8容積のジャー

第1表の結果から、本酢酸菌だけが酢酸4%および酒精を含有する培地で35~40℃の温度で深部培養が可能となることがわかる。

なお本酢酸菌(アセトバクター・アセチー2-550)は工業技術院微生物工業技術研究所に微生物保管委託申請書受理番号第4195号として寄託されている。

本発明は上記の発見に基づいて完成されたものであつて、本発明はアセトバクター属に属し、4%以上の酢酸、および酒精を含有する液体培地で35~40℃の温度での深部培養において生育旺盛でかつ酢酸生成力の強い酢酸菌を酢酸および酒精を含有する液体培地に接種し、35~40℃の温度で深部発酵を行なうことを特徴とする食酢の製造方法である。

本発明の使用菌としては、上記したアセトバクター・アセチー2-550ばかりでなく、この酢酸菌を微生物を変異させる手段(例えばX線照射、紫外線照射、薬品処理など)で変異させた菌は勿論のこと、アセトバクター属に属し、4%以

上の酢酸、および酒精を含有する液体培地で35~40℃の温度での深部培養において生育旺盛でかつ酢酸生成力の強い酢酸菌であればすべて使用することができる。

本発明で用いる深部発酵用容器としては特に制限はなく、通気攪拌が可能で無菌操作が出来るものであればよいが、主原料であるアルコール、主成分である酢酸が共に揮発性であるため比較的小量の通気で培養液に充分の空気が混合されるような装置であるのが望ましい。

つぎに本発明で用いる液体培地としては、醸造酢の原料として通常用いられている、穀類、果実、酒粕等を洗浄、破砕、蒸煮、糖化等の常法による原料処理手段で処理した後、酒精発酵して得た醪もしくはこの醪のエタノール濃度を適当に調節したものに酢酸を加えた培地、或は炭素源、窒素源、無機物、酢酸およびエタノールの適量を含有する天然液体培地または半合成液体培地のいずれでも用いることができる。

上記培地の炭素源としては例えばブドウ糖、水

飴、糖みつ、廃糖みつなどが、窒素源としては例えば酵母エキス、ポリペプトン、肉エキス、カゼイン加水分解物などが、無機塩としては例えば KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ などを用いることができる。

液体培地のエタノール濃度は4容量%以下が好ましく、本発明における使用菌の増殖およびエタノール酸化の良好さから4容量%以下であることが特に好ましい。

液体培地の酢酸濃度は1/1重量%以下がよく、4~7重量%が特に好ましい。

つぎに深部発酵の条件としては、培養温度は35~40℃であるが、35~38℃が特に優れている。

通気量は培養液の容積の10~30%の空気量が好ましく、20~25%が特に好ましい。空気の代りに酸素を用いてもよい。空気または酸素は除菌装置を通して供給するのがよい。

発酵容器の攪拌機の回転は毎分500~1000回転の範囲で行なうのがよい。

本発明にしたがつて深部発酵を行なう場合、目

的の酸度に到達した時に0.3%~0.5%のアルコールを残して培養を停止するいわゆる回分発酵、あるいは回分発酵において目的の酸度に達した時通気攪拌を止めることなく発酵液の一部を取り出し、その後新しい原料醪を添加し再び発酵を行なわせるというサイクルをくり返すいわゆる連続式回分発酵法(半連続発酵法)、あるいは目的の酸度に到達した時新しい原料醪を少量ずつ連続的に添加すると同時に発酵液を少量ずつ取り出すという連続発酵のいずれの方式で発酵を行なつてもよい。しかし本発明は、高温度でしかも比較的高酸度で酢酸菌の増殖がくり返されなければならない連続発酵を行なう場合に特に優れている。

そしていずれの方式においても、発酵開始時の増培養の接種量は本培養液の10~30容量%が望ましい。なお回分式および半連続発酵における一回の発酵期間は20~35時間で行なうことができる。

またいずれの方式においても、エタノールの揮散による損失を防ぐために適切なエタノールの回

収装置を設けることが経済上望ましい。

本発明により得られた発酵液は、 γ 過、2〜3カ月間の熟成、殺菌等の処理をした後、醸造酢製品とする。

次に本発明の実施例を示す。

実施例 1

水道水1ℓ当り酵母エキス5g、酒粕7g、ブドウ糖10g、エチルアルコール45.2g、酢酸27.2gを含有する培地1ℓを30ℓ容積のジャーファーマンターに入れ、培地を殺菌の目的で75℃で5分間加熱し、35℃に冷却した後、これに水道水1ℓ当り酵母エキス5g、酒粕10g、ブドウ糖20g、エチルアルコール30g、酢酸2gを含有する培地で500ml容の肩付振盪フラスコで37℃で20時間培養したアセトバクター・アセチー2-550（微生物保管委託申請書受理番号第4/95号）の種培養液2ℓを接種し、35℃の培養温度で除菌フィルターを通した空気を通じつつ深部培養を開始した。通気量は毎分2ℓ、回転数は毎分700回転でおこなった。

ル発酵液、酢酸発酵液および酵母エキスをもつて調製した林檎酢用仕込液50ℓを、酢酸濃度4%、アルコール濃度4%になるように仕込み、75℃で5分間殺菌後、37℃まで冷却した培地に、無菌空気を通しながら攪拌を開始し、実施例1に記載したと同様に調製したアセトバクター・アセチー2-550（微生物保管委託申請書受理番号第4/95号）の種培養液2ℓを接種し、37℃±0.5℃を維持しながら通気攪拌して深部発酵を行なった。誘導期の経過後、酸度の上昇が開始し酢酸濃度が7.3%になりアルコール濃度が0.3%になつた時通気攪拌を止めることなく、その発酵液の約半量を取り出し、それに林檎果汁発酵液、酢酸発酵液および酵母エキスを添加して調製した酢酸濃度2%、アルコール濃度5.8%の林檎酢原料液を取り出した発酵液に相当する量だけ滴らし、深部発酵を行なわせ、更に酢酸濃度が約7.03%、アルコール濃度が0.25%になつた時に発酵液の約半量を取り出し、再度上記した林檎酢原料液を滴らし、深部発酵を行なわせるというよう

特開昭54-46899

培養開始時の酢酸濃度は1.05%、固体量を示す吸光度は0.435(660 μ m, 1cmセル)であつた。

酢酸濃度が7.20%、吸光度が1.035になつた25時間後に連続発酵に入り、発酵液の一部を取り出すとともに75℃、5分間加熱殺菌した酢酸濃度1.5%、アルコール濃度4.5%の原料液を取り出した発酵液に相当する量連続的に添加した。連続発酵を開始して62時間後に発酵液の酢酸濃度は5.65%、吸光度は1.155で発酵状態は安定した。以後238時間にわたつて35℃で深部発酵による連続発酵をおこなつた。

その後、37℃に培養温度を上昇させ連続発酵を継続したが、発酵液の酢酸濃度は5.60%で安定であつた。以後106時間37℃で連続発酵をおこなつた。

取出した発酵液は貯蔵後、 γ 過殺菌して食酢を得た。

実施例 2

80ℓ容の通気発酵タンクに林檎果汁アルコー

なサイクルを繰り返す半連続発酵により林檎酢の製造をおこなつた。

そして取り出した発酵液は貯蔵後、 γ 過殺菌し塩詰をおこない食酢製品を得た。

出願人 株式会社 中 荳 酢 店

代理人 弁理士 坂 田 順 一

特開昭54-46899(6)

手 続 補 正 書

昭和53年1月30日

特許庁長官 熊谷 善二 殿

1. 事件の表示

昭和52年特許願第11242号

2. 発明の名称

食 酢 の 製 造 方 法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 愛知県半田市中村町2丁目6番地

名 称 株式会社 中 筑 酢 店

代表取締役 中 筑 又 左 門

4. 代 理 人

住 所 郵便番号 171

東京都豊島区南池袋二丁目2番5号(英ビル)

氏 名 (6946) 弁理士 坂 田 順 一

電 話 (984) 2023

5. 補正命令の日付

自 発 補 正

6. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

7. 補正の内容

(1) 明細書第11頁第5行～第6行の『微生物保管委託申請書受理番号第4/95号』を『微工研函寄第4/95号(PERM-P NO.4/95)』と訂正します。

(2) 明細書第15頁第6行～第7行、および第17頁第7行～第8行の『(微生物保管委託申請書受理番号第4/95号)』を『(微工研函寄第4/95号)』と訂正します。

8. 添附書類の目録

(1) 微生物受託番号通知書(微工研第3820号)(写) / 通

代理人 弁理士 坂 田 順 一